DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20260210

FOXJ3通过调控PTGS2影响低氧诱导肺动脉平滑肌细胞增殖和迁移

刘芝彤，周志宏*，周逸昶，赵钦，杨瑞

（巴彦淖尔市医院，内蒙古 巴彦淖尔 015000）

【摘要】目的 探讨叉头框蛋白J3（FOXJ3）对低氧诱导肺动脉平滑肌细胞（PASMCs）增殖和迁移的影响，并分析其与前列腺素-内过氧化物合酶2（PTGS2）的关系。**方法** 将PASMCs分别置于常氧及不同低氧浓度（10%、3%、1%）条件下培养48 h，采用定量聚合酶链式反应（qPCR）和蛋白质免疫印迹（Western blotting）检测FOXJ3表达。设常氧组、低氧组和低氧+pcDNA-*FOXJ3*组，采用qPCR和Western blotting检测FOXJ3表达，采用CCK-8法和跨室培养实验评估细胞增殖和迁移。采用qPCR和Western blotting筛选FOXJ3相关候选下游分子，并通过ChIP-qPCR与萤光素酶报告基因实验分析*FOXJ3*与*PTGS2*启动子区域的结合情况。另设阴性对照组、*FOXJ3*组、si-*PTGS2*组和*FOXJ3*+si-*PTGS2*组，观察PASMCs增殖和迁移的变化。**结果** 与常氧组相比，各低氧组PASMCs中FOXJ3表达均降低，且随氧浓度下降呈进一步下调趋势。低氧处理可增强PASMCs增殖和迁移能力，*FOXJ3*过表达后上述变化受到抑制。候选分子筛选结果显示，低氧条件下PTGS2表达下降，*FOXJ3*过表达后其表达回升。ChIP-qPCR结果显示，*FOXJ3*过表达后*PTGS2*启动子区域富集水平升高，萤光素酶报告基因实验进一步表明FOXJ3调控*PTGS2*启动子活性。*PTGS2*敲低可部分逆转*FOXJ3*过表达对PASMCs增殖和迁移的抑制作用。**结论** 低氧可下调PASMCs中FOXJ3的表达，*FOXJ3*过表达可抑制低氧诱导的PASMCs增殖和迁移，该作用是通过调控PTGS2表达实现。

【关键词】低氧；FOXJ3；PTGS2；肺动脉平滑肌细胞；增殖；迁移

中图分类号：R543.2 **文献标识码：**A **文章编号：**2096-8965（2026）02-0078-08

FOXJ3 regulates hypoxia-induced proliferation and migration of pulmonary artery smooth muscle cells by regulating PTGS2

Liu Zhitong, Zhou Zhihong*, Zhou Yichang, Zhao Qin, Yang Rui

(Bayannur City Hospital, Bayannur 015000, Inner Mongolia, China)

【Abstract】Objective To investigate the effect of forkhead box J3 (FOXJ3) on hypoxia-induced proliferation and migration of pulmonary artery smooth muscle cells (PASMCs) and to analyze its relationship with prostaglandin-endoperoxide synthase 2 (PTGS2). **Methods** PASMCs were cultured under normoxia or different hypoxic conditions (10%, 3%, and 1% O_2) for 48 h, and FOXJ3 expression was measured by quantitative polymerase chain reaction (qPCR) and Western blotting. Cells were divided into the normoxia, hypoxia, and hypoxia + pcDNA-*FOXJ3* groups. FOXJ3 expression was assessed by qPCR and Western blotting, and cell proliferation and migration were evaluated by Cell Counting Kit-8 (CCK-8) assay and Transwell assay. Candidate downstream molecules related to FOXJ3 were screened by qPCR and Western blotting, and the binding of *FOXJ3* to the *PTGS2* promoter region was analyzed by chromatin immunoprecipitation quantitative polymerase chain reaction (ChIP-qPCR) and luciferase reporter gene as-

收稿日期：2026-04-24；**修回日期：**2026-06-10

基金项目：巴彦淖尔市科技计划项目（k202534；k202521）

通信作者：周志宏（1983-），女，内蒙古巴彦淖尔人，主任医师，硕士研究生导师，主要从事心血管疾病发病机制的研究，E-mail：574419240@qq.com

say. In addition, cells were divided into the negative control (NC), *FOXJ3*, si-*PTGS2*, and *FOXJ3* + si-*PTGS2* groups to observe the changes in proliferation and migration of PASMCs. **Results** Compared with the normoxia group, FOXJ3 expression in PASMCs was decreased in all hypoxia groups, with further downregulation as oxygen concentration decreased. Hypoxia treatment enhanced the proliferation and migration abilities of PASMCs, and these changes were inhibited after *FOXJ3* overexpression. Candidate molecule screening showed that PTGS2 expression decreased under hypoxic conditions and increased after *FOXJ3* overexpression. ChIP-qPCR results demonstrated that the enrichment level of the *PTGS2* promoter region was elevated after *FOXJ3* overexpression, and luciferase reporter gene assay further indicated that FOXJ3 regulated *PTGS2* promoter activity. *PTGS2* knockdown partially reversed the suppressive effects of *FOXJ3* overexpression on PASMC proliferation and migration. **Conclusion** Hypoxia downregulates FOXJ3 expression in PASMCs. *FOXJ3* overexpression inhibits hypoxia-induced proliferation and migration of PASMCs, and this effect is achieved through regulating PTGS2 expression.

【Keywords】 Hypoxia; FOXJ3; PTGS2; Pulmonary artery smooth muscle cells; Proliferation; Migration

肺动脉高压（Pulmonary Arterial Hypertension，PAH）是一类以肺血管阻力持续升高和肺动脉压力进行性增加为主要特征的严重心肺血管疾病[1]。随着病程进展，患者可出现右心室肥厚和右心功能不全，严重者甚至死亡[2]。尽管近年来有关PAH的研究不断增多，但其发病机制仍较复杂，临床治疗效果及远期预后仍不理想。

肺血管重构是PAH发生发展的主要病理基础之一，其中肺动脉平滑肌细胞（Pulmonary Artery Smooth Muscle Cell，PASMC）异常增殖和迁移在血管壁增厚及管腔狭窄形成中发挥重要作用[3]。低氧是诱导肺血管重构的常见病理刺激，可促进PASMCs表型异常，参与PAH进程[4-5]。因此，围绕低氧条件下PASMCs异常增殖和迁移的调控机制开展研究，有助于加深对PAH肺血管重构过程的认识。

叉头盒家族转录因子可广泛参与细胞生长、分化和转录调控等过程[6-7]。有研究提示，叉头框蛋白J3（Forkhead Box J3，FOXJ3）可能与缺氧相关肺血管病变有关[8]。已有研究表明，FOXJ3在缺氧小鼠PASMCs中表达降低，在特发性肺动脉高压（idiopathic Pulmonary Arterial Hypertension，iPAH）患者及缺氧处理的人PASMCs中亦呈低表达[8]。这些研究提示，FOXJ3可能参与肺血管重构过程，但其在低氧诱导PASMCs异常增殖和迁移中的作用及其下游调控机制仍有待进一步明确。

为进一步寻找FOXJ3可能涉及的下游分子，有研究基于公开数据库对iPAH相关差异基因进行了生物信息学分析，结果提示血管内皮生长因子A（Vascular Endothelial Growth Factor A，VEGFA）、前列腺素–内过氧化物合酶2（Prostaglandin-Endoperoxide Synthase 2，PTGS2）、髓细胞白血病1（Myeloid Cell Leukemia 1，MCL1）和环指蛋白6（Ring Finger Protein 6，RNF6）等分子可能与疾病进展相关[9]。这些分子可能参与iPAH的相关病理过程，但其在低氧诱导PASMCs中的表达特征及其与FOXJ3的关系目前尚不清楚。

本研究以低氧诱导的PASMCs为研究对象，进一步检测FOXJ3的表达变化，分析其对细胞增殖和迁移的影响，并结合候选分子筛选及染色质免疫沉淀定量聚合酶链式反应（Chromatin Immunoprecipitation quantitative Polymerase Chain Reaction，ChIP-qPCR）验证，进一步探讨FOXJ3与PTGS2的关系。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

小鼠PASMCs（iCell Bioscience，MIC-iCell-a003）、原代PASMC专用培养基（iCell Bioscience，iCell-a003-002m）、TriQuick Reagent总RNA提取试剂（索莱宝，R1100）、HiScript III RT SuperMix for qPCR（+gDNA wiper）（诺唯赞，R323-01）、ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix（诺唯赞，Q711-02）、RIPA裂解液（碧云天，P0013C）、BCA蛋白浓度测定试剂盒（碧云天，P0012S）、ChIP Assay Kit（碧云天，P2080S）、ECL化学发光试剂盒（碧云天，P0018S）、CCK-8试剂盒（碧云天，C0037）、0.25%胰蛋白酶（Gibco，25200114）、丝裂霉素C（MedChemExpress，HY-13316）、4%多聚甲醛固定液（索莱宝，PQ0660）、结晶紫染液（索莱

宝，G1071）、FOXJ3（武汉三鹰，19751-1-AP，稀释比例1∶1 000）、β-actin（武汉三鹰，66009-1-Ig，稀释比例1∶50 000）、VEGFA（武汉三鹰，81323-2-RR，稀释比例1∶8 000）、PTGS2（武汉三鹰，66351-1-Ig，稀释比例1∶2 000）、MCL1（武汉三鹰，16225-1-AP，稀释比例1∶2 000）、RNF6（武汉三鹰，20437-1-AP，稀释比例1∶2 000）、HRP标记二抗（武汉三鹰，20437-1-AP，稀释比例1∶2 000）、二抗HRP-Goat Anti-Rabbit IgG（武汉三鹰，RGAR301，稀释比例1∶5 000）、二抗HRP-conjugated Goat Anti-Mouse IgG（H+L）（武汉三鹰，SA00001-1，稀释比例1∶10 000）、Goat Anti-Rabbit IgG（H+L）（武汉三鹰，SA00001-2，稀释比例1∶10 000）、转染试剂Lipofectamine 3000（Invitrogen，L3000015）、pRL-TK（Promega，E2241）、萤光素酶活性检测试剂盒（Promega，E1910）、*FOXJ3*过表达质粒pcDNA-*FOXJ3*及其阴性对照质粒pcDNA-NC、siRNA-*PTGS2*、对应阴性对照片段si-NC、萤光素酶报告基因质粒（包括pGL3-Basic-WT和pGL3-Basic-mut）均由江苏赛索飞生物科技有限公司定制合成。

1.2 引物

FOXJ3、*VEGFA*、*PTGS2*、*MCL1*、*RNF6*及内参*β-actin*引物均由生工生物工程（上海）股份有限公司合成。ChIP-qPCR所用*PTGS2*启动子SITE1、SITE2区域引物亦由生工生物工程（上海）股份有限公司合成，各引物序列（5'-3'）如下：

FOXJ3-F131：CCTTAAAGTGCCTCGGTCCA，
FOXJ3-R131：ACAATGTTACCCGTTCTACGGA；
VEGFA-F222：GCTGCTGTAACGATGAAGCC，
VEGFA-R222：GGGATTTCTTGCGCTTTCGT；
PTGS2-F178：CATCCCCTTCCTGCGAAGTT，
PTGS2-R178：CATGGGAGTTGGGCAGTCAT；
MCL1-F173：GGGGCAGGATTGTGACTCTTA，
MCL1-R173：GAACTCCACAAACCCATCCCA；
RNF6-F158：AGTGGTCAGCATGGAAGAGC，
RNF6-R158：GTTCCAGCCTCAACTACGCT；
β-actin-F265：TGAGAGGGAAATCGTGCGTG，
β-actin-R265：GTCTTTACGGATGTCAACGTCA；
SITE1-F209：ACCTTTTGATCCGTTGCCAT，
SITE1-R209：TGCTGAGCTCCACTTCATCG；
SITE2-F178：GTGTTACCCAGCCTGCTTCA，
SITE2-R178：GGTGTGAGGATGGAGTAGCG。

1.3 细胞培养、低氧处理及分组

PASMCs在37℃、5%CO_2条件下培养。常氧条件设为21%O_2、5%CO_2、74%N_2。低氧干预在低氧培养箱中完成，分别设置10%O_2（85%N_2+5%CO_2+10%O_2）、3%O_2（92%N_2+5%CO_2+3%O_2）和1%O_2（94%N_2+5%CO_2+1%O_2），处理时间均为48 h。不同氧浓度处理实验分为常氧组、10%O_2组、3%O_2组和1%O_2组；*FOXJ3*过表达实验分为常氧组、低氧组和低氧+pcDNA-*FOXJ3*组，其中低氧条件为3%O_2；回复实验分为阴性对照（Negative Control，NC）组、*FOXJ3*组、si-*PTGS2*组和*FOXJ3*+si-*PTGS2*组，其中NC组转染pcDNA-NC+si-NC，*FOXJ3*组转染pcDNA-*FOXJ3*+si-NC，si-*PTGS2*组转染si-*PTGS2*，*FOXJ3*+si-*PTGS2*组转染pcDNA-*FOXJ3*+si-*PTGS2*；ChIP-qPCR实验分为pcDNA3.1组和pcDNA3.1-*FOXJ3*组。

1.4 质粒及siRNA转染

PASMCs接种于相应培养板中，待细胞融合度达到70%～80%时进行转染。按Lipofectamine 3000转染试剂说明书配制转染体系，将质粒或siRNA与转染试剂分别加入无血清培养基中混匀，室温静置15～20 min后加入细胞，6 h后更换为完全培养基，继续培养。其后根据实验设计给予常氧或低氧处理。

1.5 qPCR

各组细胞处理结束后弃去培养液，PBS洗涤1次，加入TriQuick Reagent裂解细胞并提取总RNA。按照试剂说明书完成逆转录反应，获得cDNA后采用ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix进行实时萤光定量PCR扩增。以*β-actin*为内参，采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因相对表达量。

1.6 Western blotting

各组细胞经预冷PBS洗涤后加入RIPA裂解液，冰上裂解30 min，12 000 r/min、4℃离心15 min，收集上清并进行蛋白定量。取等量蛋白行十二烷基硫酸钠–聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，随后转移至聚偏二氟乙烯膜，5%脱脂奶粉室温封闭1 h，加入相应一抗于4℃孵育过夜，含吐温-20的Tris缓冲盐水洗膜后加入二抗室温孵育1 h，采用ECL化学发光试剂显影，以β-actin作为内参进行灰度分析。

1.7 CCK−8法

取对数生长期PASMCs，消化后制成单细胞悬液，以完全培养基重悬并将细胞密度调整为3×10^4个/mL，接种于96孔板，每孔100 μL，每组设3个复孔。按实验方案处理后，于12、24、48和72 h分别向各孔加入10 μL CCK-8工作液，继续在37℃条件下孵育2 h，随后于450 nm波长处读取吸光度值。

1.8 Transwell迁移实验

取对数生长期PASMCs，消化后制成单细胞悬液，并将细胞密度调整为1×10^6个/mL。取100 μL细

胞悬液加入Transwell小室上室，下室加入600 μL含10%胎牛血清的完全培养基，继续培养48 h。培养结束后，擦去上室未迁移细胞，4%多聚甲醛固定15 min，1%结晶紫染色10 min，显微镜下拍照并计数穿膜细胞数。

1.9 候选分子筛选及结合位点预测

提取各组细胞RNA和蛋白，分析VEGFA、PTGS2、MCL1和RNF6的表达变化。采用JASPAR数据库预测*FOXJ3*在*PTGS2*启动子区域的潜在结合位点，并据此设计ChIP-qPCR引物。

1.10 ChIP−qPCR

细胞处理48 h后，采用ChIP Assay Kit进行染色质免疫沉淀实验。细胞经甲醛交联后裂解，超声打断染色质，加入FOXJ3抗体进行免疫沉淀，同时设置IgG阴性对照，以input作为内参。沉淀DNA纯化后，采用针对*PTGS2*启动子SITE1和SITE2区域的引物进行qPCR扩增，结果以相对于% of input表示。

1.11 萤光素酶报告基因实验

为验证*FOXJ3*在*PTGS2*启动子上的两个潜在结合位点（SITE1和SITE2），分别构建了包含SITE1或SITE2野生型（wild type，WT）及突变型（mutant type，mut）序列的萤光素酶报告基因质粒（pGL3-Basic）。具体分组为：对于SITE1，设置pcDNA3.1+pGL3-Basic-WT，pcDNA3.1-*FOXJ3*+pGL3-Basic-WT，pcDNA3.1+pGL3-Basic-mut，pcDNA3.1-*FOXJ3*+pGL3-Basic-mut共4组；SITE2采用完全相同的4组设计。将HEK293T细胞接种于24孔板，待细胞密度达70%～80%时，使用Lipofectamine 3000共转染报告基因质粒、pcDNA3.1-*FOXJ3*或pcDNA3.1空载质粒及内参质粒pRL-TK。转染48 h后，使用萤光素酶活性检测试剂盒检测萤光素酶活性。萤火虫萤光素酶活性经海肾萤光素酶活性归一化，以各自的pcDNA3.1+pGL3-Basic-WT组为对照计算相对活性。

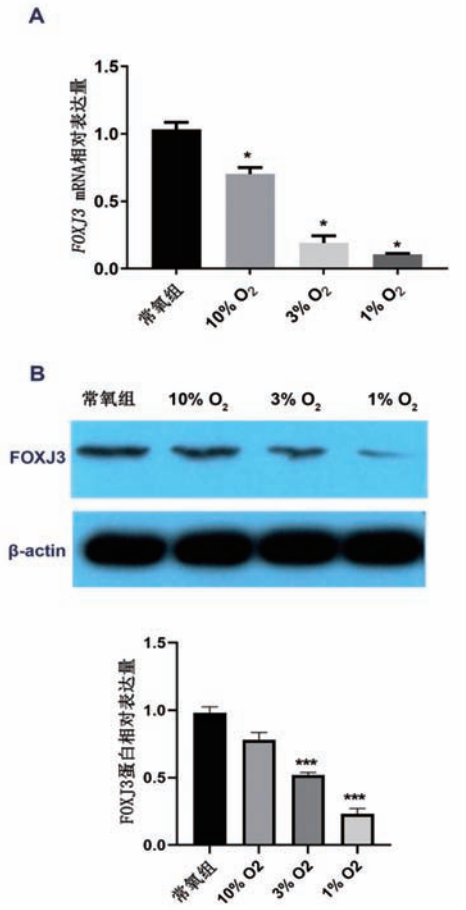
1.12 统计学分析

所有实验均重复3次。计量资料以平均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，两组间比较采用*t*检验，多组间比较采用单因素方差分析，组间多重比较采用LSD-*t*检验。应用GraphPad Prism 9.0软件进行统计学处理，以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 低氧干预对PASMCs中FOXJ3表达的影响

为观察低氧对PASMCs中FOXJ3表达的影响，PASMCs被置于常氧、10% O_2、3% O_2和1% O_2条件下培养48 h，随后采用qPCR和Western blotting检测FOXJ3表达水平。qPCR结果表示，与常氧组相比，各低氧组PASMCs中*FOXJ3* mRNA表达均下降，且随着氧浓度降低，其表达进一步下调（见图1A）。同时发现，FOXJ3蛋白表达在各低氧组中也呈下降趋势，总体与mRNA变化一致（见图1B）。



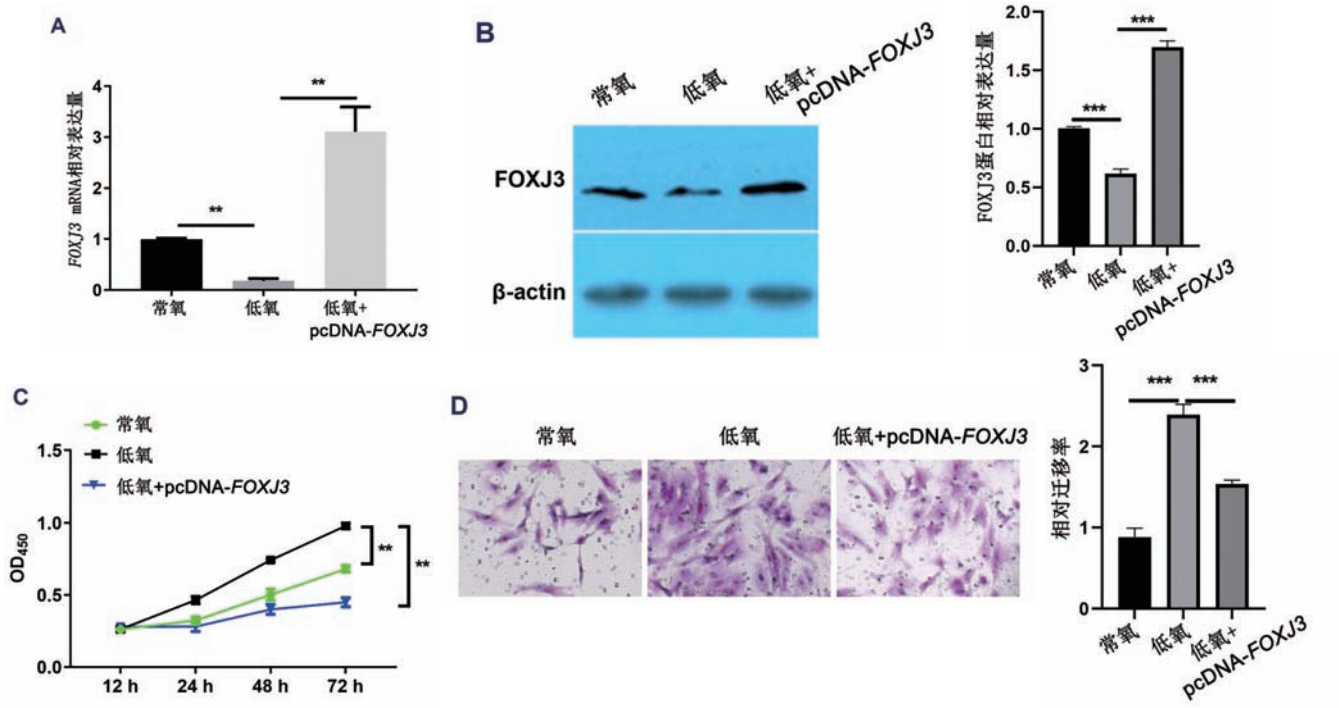
PASMCs分别置于常氧、10% O_2、3% O_2和1% O_2条件下培养48 h后收集细胞。（A）采用qPCR检测各组*FOXJ3* mRNA表达水平；（B）采用Western blotting检测各组FOXJ3蛋白表达；下方的柱形图是对FOXJ3蛋白条带进行灰度分析。与常氧组比较，*P<0.05，***P<0.001。

图1 不同氧浓度条件下PASMCs中FOXJ3的检测

Figure 1 Detection of FOXJ3 in PASMCs under different oxygen concentrations

2.2 *FOXJ3*过表达抑制低氧诱导的PASMCs增殖和迁移

为进一步观察*FOXJ3*过表达对低氧条件下PASMCs生物学行为的影响，设置常氧组、低氧组及低氧+pcDNA-*FOXJ3*组。qPCR和Western blotting检测结果均显示，低氧处理后FOXJ3表达下降，而转染pcDNA-*FOXJ3*后其表达回升（见图2A、2B）。CCK-8检测显示，低氧可增强PASMCs增殖活性，*FOXJ3*过表达后该变化受到抑制（见图2C）。Transwell迁移实验结果表明，低氧可提高PASMCs迁移能力，而*FOXJ3*过表达后迁移减弱（见图2D）。



PASMCs分为常氧组、低氧组和低氧+pcDNA-*FOXJ3*组。（A）qPCR检测各组*FOXJ3* mRNA表达水平；（B）Western blotting检测各组FOXJ3蛋白表达水平，右侧柱形图是对FOXJ3蛋白条带进行灰度分析；（C）CCK-8检测各组细胞增殖活性；（D）Transwell实验检测各组细胞迁移能力。***P*<0.01，****P*<0.001。

图2　*FOXJ3*过表达对低氧条件下PASMCs增殖和迁移的检测

Figure 2　Effect of *FOXJ3* overexpression on PASMC proliferation and migration under hypoxic conditions

2.3　*FOXJ3*对PTGS2表达的调控及其与*PTGS2*启动子的结合

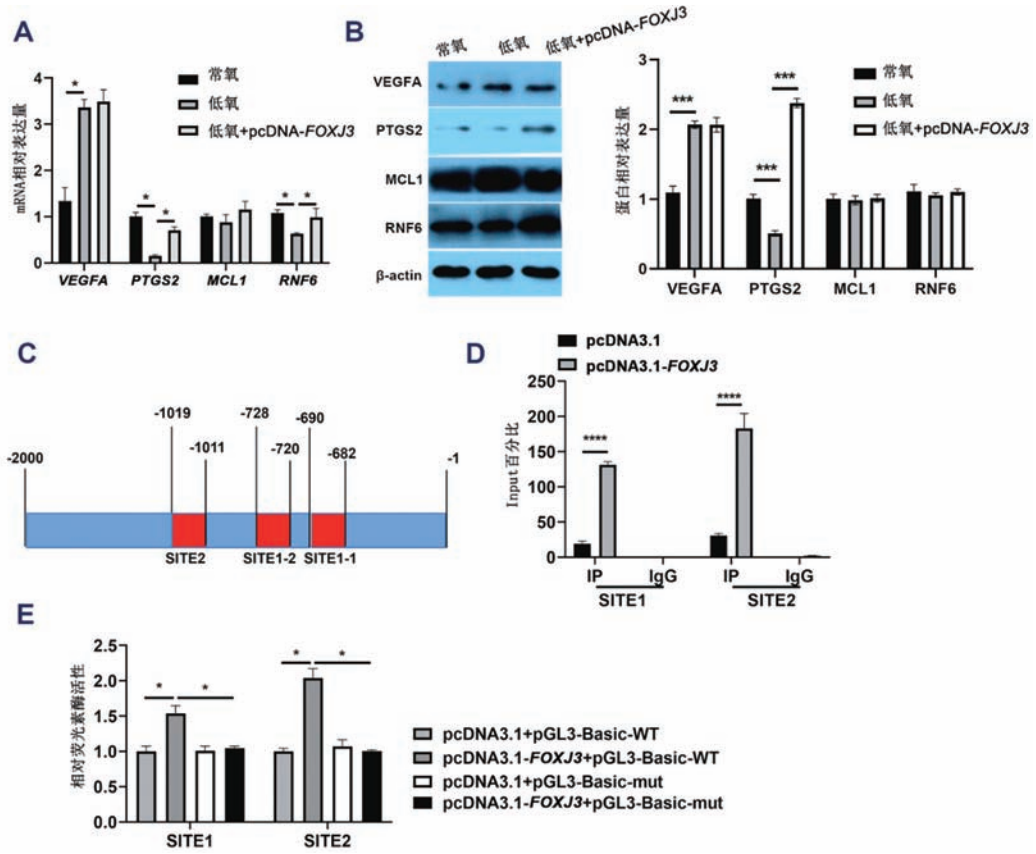
为筛选FOXJ3可能调控的下游分子，检测不同处理条件下*VEGFA*、*PTGS2*、*MCL1*及*RNF6*的表达变化。结果显示，低氧处理后*PTGS2* mRNA表达下降，*FOXJ3*过表达后其表达回升；*VEGFA*在低氧条件下升高，转染pcDNA-*FOXJ3*后未见明显下降；*MCL1*变化不明显，*RNF6*在低氧条件下呈下降趋势，*FOXJ3*过表达后有所恢复（见图3A）。Western blotting结果显示，PTGS2蛋白表达变化与mRNA检测结果基本一致（见图3B）。进一步对*PTGS2*启动子区域进行结合位点预测，并采用ChIP-qPCR检测*FOXJ3*与其启动子区域的结合情况。结果显示，*FOXJ3*过表达后*PTGS2*启动子区域富集水平升高，提示*FOXJ3*与*PTGS2*启动子区域存在结合（见图3C、3D）。此外，通过萤光素酶实验发现pcDNA3.1-*FOXJ3*+pGL3-Basic-WT组相对于pcDNA3.1+pGL3-Basic-WT组、pcDNA3.1+pGL3-Basic-mut组、pcDNA3.1-*FOXJ3*+pGL3-Basic-mut组的萤光素酶活性更高（见图3E），提示*FOXJ3*调控*PTGS2*启动子活性。

2.4　si-*PTGS2*对FOXJ3抑制PASMCs增殖和迁移作用的影响

为明确PTGS2在FOXJ3调控PASMCs中的作用，设NC组、*FOXJ3*组、si-*PTGS2*组和*FOXJ3*+si-*PTGS2*组进行比较。*FOXJ3*过表达后，*FOXJ3* mRNA水平升高，*PTGS2* mRNA表达亦增加；si-*PTGS2*，*FOXJ3* mRNA水平无明显改变，而*PTGS2* mRNA表达显著下降。此外，在过表达*FOXJ3*的基础上干扰*PTGS2*，*FOXJ3* mRNA水平无明显改变，而*PTGS2* mRNA表达显著下降（见图4A）。Western blotting结果与qPCR结果一致（见图4B）。CCK-8结果表明，相对于NC组，*FOXJ3*过表达可降低PASMCs增殖活性，si-*PTGS2*表达可增强PASMCs增殖活性；此外，si-*PTGS2*增加被*FOXJ3*过表达抑制的PASMCs增殖活性（见图4C）。Transwell迁移实验可见，*FOXJ3*组迁移能力低于NC组，si-*PTGS2*组迁移能力高于NC组；*FOXJ3*+si-*PTGS2*组的迁移能力较*FOXJ3*组增加，但较si-*PTGS2*组减少（见图4D）。总之，干扰*PTGS2*后，FOXJ3对PASMCs增殖和迁移的抑制作用减弱。

3　讨论

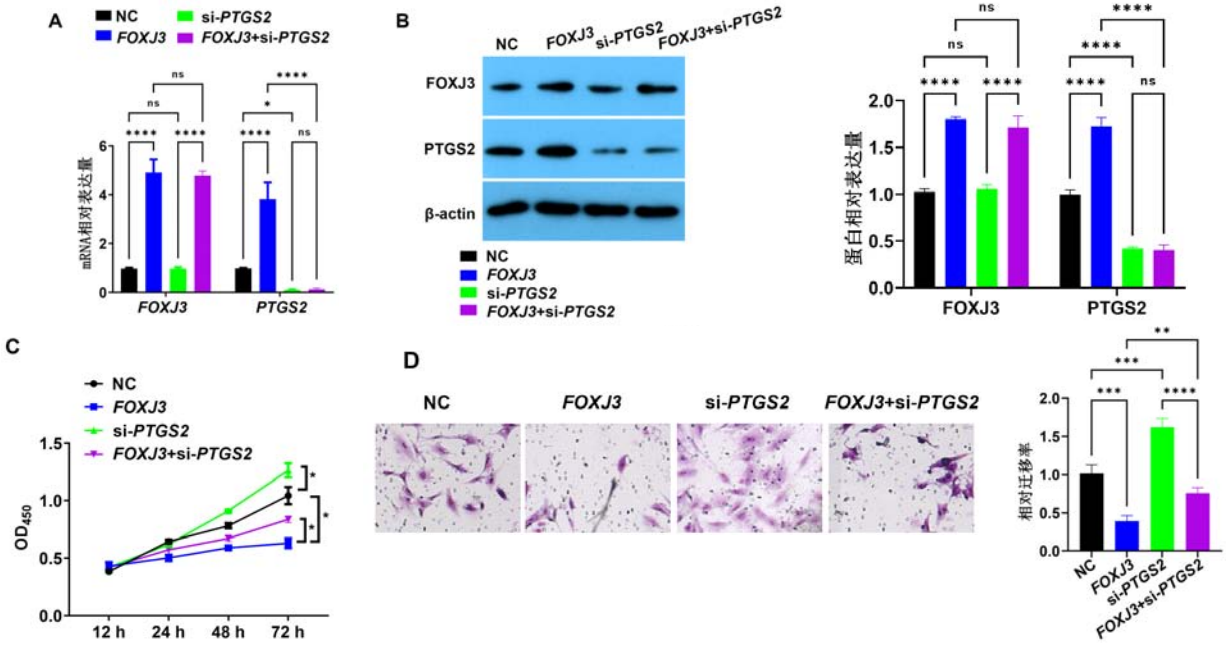
PAH的主要病理基础是肺血管重构，其中PASMCs异常增殖和迁移是导致血管中膜增厚及管腔狭窄的细胞学基础[10]。低氧可诱导PASMCs生物学行为异常，促进其持续活化，进而参与肺血管重



PASMCs分为常氧组、低氧组和低氧+pcDNA-*FOXJ3*组。（A）qPCR检测各组*VEGFA*、*PTGS2*、*MCL1*和*RNF6* mRNA水平；（B）Western blotting检测各组相关蛋白水平，右边的柱形图是对蛋白条带进行灰度分析；（C）*PTGS2*启动子区域潜在*FOXJ3*结合位点预测；（D）ChIP-qPCR检测FOXJ3与*PTGS2*启动子区域的结合情况；（E）萤光素酶实验验证*FOXJ3*是否调控*PTGS2*启动子活性。*P<0.05，***P<0.001，****P<0.000 1。

图3　FOXJ3对候选下游分子表达及其与*PTGS2*启动子结合的检测

Figure 3　Effects of FOXJ3 on expression of candidate downstream molecules and its binding to *PTGS2* promoter



PASMCs设NC组、*FOXJ3*组、si-*PTGS2*组和*FOXJ3*+si-*PTGS2*组。（A）qPCR测定*FOXJ3*和*PTGS2* mRNA表达；（B）Western blotting分析FOXJ3和PTGS2蛋白表达，右侧柱形图是对FOXJ3和PTGS2蛋白条带进行灰度分析；（C）CCK-8法评估细胞增殖活性；（D）Transwell实验评价细胞迁移能力。*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001，****P<0.000 1，ns表示差异无统计学意义。

图4　*PTGS2*干扰对FOXJ3介导的PASMCs增殖与迁移变化的影响

Figure 4　Effect of *PTGS2* knockdown on FOXJ3−mediated changes in PASMC proliferation and migration

构[11]。本研究发现，FOXJ3在低氧处理后的PASMCs中明显下调，且随氧浓度降低呈持续下降趋势；恢复*FOXJ3*表达后，低氧诱导的PASMCs增殖和迁移均受到抑制。该结果提示FOXJ3下调可能与低氧诱导的PASMCs病理表型形成有关，其在该模型中更倾向于发挥抑制异常重构的作用。

据报道，叉头盒家族转录因子可参与细胞增殖、分化、代谢及应激反应调控，其在肺血管重构中的作用已受到关注[12-14]。不同叉头盒家族成员在肺血管病变中的功能并不一致[15]，部分分子与PASMCs异常增殖和重构进展相关，另一部分则更多与细胞稳态维持及病理改变抑制有关[15-16]。本研究中FOXJ3在低氧条件下呈低表达，而过表达后可抑制PASMCs增殖和迁移。为进一步明确其下游机制，我们对候选分子进行了筛选。

在候选下游分子的筛选中，PTGS2的变化最为显著，低氧处理后其表达下降，*FOXJ3*过表达可使其表达回升。ChIP-qPCR与萤光素酶报告基因实验结果进一步显示FOXJ3调控*PTGS2*启动子活性。功能回复实验表明，在*FOXJ3*过表达基础上敲低*PTGS2*后，PASMCs的增殖和迁移较*FOXJ3*组再次增强，说明PTGS2参与了FOXJ3对PASMCs异常表型的调控过程。

PTGS2编码环氧合酶-2（Cyclooxygenase-2，COX-2），其在肺血管重构中的作用具有一定复杂性[17-18]。既往研究表明，COX-2及其相关代谢通路在低氧肺循环适应和肺血管稳态维持中可能具有一定保护作用[19]。COX-2缺失可加重低氧相关PAH及肺血管重构[18-19]。结合本研究结果，在低氧诱导PASMCs模型中，*PTGS2*下调与PASMCs增殖、迁移增强相伴，而恢复*FOXJ3*表达后PTGS2回升并伴随上述异常表型减弱，说明PTGS2下降可能与PASMCs的病理性活化有关。需要指出的是，关于低氧条件下PTGS2的表达变化，既往报道并不完全一致[19]。有研究在人PASMC中观察到低氧可诱导COX-2表达，并伴随细胞增殖抑制[20]。该差异可能与细胞来源、物种、低氧强度、处理时间及培养条件等因素有关。因此，对于PTGS2的作用仍应结合具体实验背景判断。本研究也检测了候选分子VEGFA、MCL1和RNF6。这些分子在低氧或*FOXJ3*过表达条件下也表现出一定变化，然而其变化模式、稳定性及后续功能学证据均不及PTGS2明确，因此未作为后续机制研究的重点。

本研究仍存在一定局限：现有证据主要来源于体外培养的PASMCs，尚缺乏动物模型及临床样本验证。另外，本研究主要围绕PASMCs增殖和迁移展开，对于凋亡、表型转换以及PTGS2下游前列腺素代谢变化尚未深入分析，因此对FOXJ3/PTGS2作用网络的认识仍不够完整。上述问题仍有待在后续研究中进一步完善。

4 结论

本研究表明，FOXJ3在低氧诱导的PASMCs中呈低表达，恢复*FOXJ3*表达后可抑制PASMCs的增殖和迁移。结合PTGS2的表达变化、启动子结合结果及干预实验，说明FOXJ3可能通过调控PTGS2参与低氧诱导的PASMCs异常表型形成，并可能参与低氧相关肺血管重构过程。上述结果为PAH分子机制研究提供了新的细胞实验依据，也为后续围绕FOXJ3/PTGS2轴开展进一步研究提供了线索。

参考文献

[1] LUNA-LÓPEZ R, RUIZ MARTÍN A, ESCRIBANO SUBÍAS P. Pulmonary arterial hypertension[J]. Med Clin, 2022, 158(12): 622-629.

[2] D'ALTO M, BADAGLIACCA R. The importance of right ventricular remodelling in pulmonary arterial hypertension [J]. Heart, 2022, 108(17): 1338-1339.

[3] MOCUMBI A, HUMBERT M, SAXENA A, et al. Pulmonary hypertension[J]. Nat Rev Dis Primers, 2024, 10(1): 1.

[4] JIANG Y, SONG S, LIU J, et al. Epigenetic regulation of programmed cell death in hypoxia-induced pulmonary arterial hypertension[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1206452.

[5] NAEIJE R, RICHTER M J, RUBIN L J. The physiological basis of pulmonary arterial hypertension[J]. Eur Respir J, 2022, 59(6): 2102334.

[6] CASTANEDA M, HOLLANDER P D, MANI S A. Forkhead box transcription factors: Double-edged swords in cancer[J]. Cancer Res, 2022, 82(11): 2057-2065.

[7] TSUCHIYA K, OGAWA Y. Forkhead box class O family member proteins: The biology and pathophysiological roles in diabetes[J]. J Diabetes Investig, 2017, 8(6): 726-734.

[8] LI S, ZHANG J, WANG X, et al. Super-enhancer target gene CBP/p300-interacting transactivator with Glu/Asp-Rich C-terminal domain, 2 cooperates with transcription factor Forkhead Box J3 to inhibit pulmonary vascular remodeling[J]. Cell Prolif, 2025, 58(11): e13817.

[9] ZHOU Y, XU L, OU A, et al. Identification of potential core genes in idiopathic pulmonary arterial hypertension: An observational study highlighting the role of VEGFA[J]. Medicine, 2025, 104(43): e45398.

[10] SHIMODA L A, LAURIE S S. Vascular remodeling in pulmonary hypertension[J]. J Mol Med (Berl), 2013, 91(3): 297-309.

[11] DUNHAM-SNARY K J, WU D, SYKES E A, et al. Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction: From Molecular Mechanisms to Medicine[J]. Chest, 2017, 151(1): 181-192.
[12] CHEN T, NI M, WANG H, et al. The Reparative Effect of FOXM1 in Pulmonary Disease[J]. Lung, 2024, 203(1): 1.
[13] 王静涵, 杨立新. 叉头框蛋白A基因在进化、发育和疾病中的功能[J]. 生物化学与生物物理进展, 2025, 52(4): 869-881.
[14] 余海, 东亮颖, 单骄宇. Foxp3的功能调控及其相关信号传导通路的研究进展[J]. 重庆医学, 2024, 53(S2): 132-134.
[15] LI B, TENG C, YU H, et al. Alleviating experimental pulmonary hypertension via co-delivering FoxO1 stimulus and apoptosis activator to hyperproliferating pulmonary arteries [J]. Acta Pharm Sin B, 2023, 13(6): 2369-2382.
[16] BOURGEOIS A, LAMBERT C, HABBOUT K, et al. FOXM1 promotes pulmonary artery smooth muscle cell expansion in pulmonary arterial hypertension[J]. J Mol Med, 2018, 96(2): 223-235.
[17] RICCIOTTI E, HAINES P G, CHAI W, et al. Prostanoids in cardiac and vascular remodeling[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2024, 44(3): 558-583.
[18] DURMUS S, ATAHAN E, AVCI KILICKIRAN B, et al. Significance of cyclooxgenase-2 gene polymorphism and related miRNAs in pulmonary arterial hypertension[J]. Clin Biochem, 2022, 107: 33-39.
[19] FREDENBURGH L E, LIANG O D, MACIAS A A, et al. Absence of cyclooxygenase-2 exacerbates hypoxia-induced pulmonary hypertension and enhances contractility of vascular smooth muscle cells[J]. Circulation, 2008, 117(16): 2114-2122.
[20] YANG X, SHEARES K K, DAVIE N, et al. Hypoxic induction of COX-2 regulates proliferation of human pulmonary artery smooth muscle cells[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2002, 27(6): 688-696.

（上接第48页）

[28] SHADAN A, PATHAK A, MA Y, et al. Deciphering the virulence factors, regulation, and immune response to *Acinetobacter baumannii* infection[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2023, 13: 1053968.
[29] CHEN F, GUO S, LI Y, et al. *Fusobacterium nucleatum*-driven CX3CR1^{+} PD-L1^{+} phagocytes route to tumor tissues and reshape tumor microenvironment[J]. Gut Microbes, 2025, 17(1): 2442037.
[30] YASUDA T, WANG Y A. Gastric cancer immunosuppressive microenvironment heterogeneity: Implications for therapy development[J]. Trends Cancer, 2024, 10(7): 627-642.
[31] HOU W, ZHAO Y, ZHU H. Predictive biomarkers for immunotherapy in gastric cancer: Current status and emerging prospects[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(20): 15321.
[32] ENGSTRAND L, GRAHAM D Y. Microbiome and gastric cancer[J]. Dig Dis Sci, 2020, 65(3): 865-873.
[33] ZHENG D, LIWINSKI T, ELINAV E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease[J]. Cell Res, 2020, 30(6): 492-506.
[34] DOUGHERTY M W, JOBIN C. Intestinal bacteria and colorectal cancer: Etiology and treatment[J]. Gut Microbes, 2023, 15(1): 2185028.
[35] WANG G, HUANG Y, ZHOU L, et al. Immunotherapy and targeted therapy as first-line treatment for advanced gastric cancer[J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2024, 198: 104197.
[36] WANG Y, HAN W, WANG N, et al. The role of microbiota in the development and treatment of gastric cancer[J]. Front Oncol, 2023, 13: 1224669.
[37] ALMEIDA R S, WISNIESKI F, TAKAO REAL KARIA B, et al. CRISPR/Cas9 genome-editing technology and potential clinical application in gastric cancer[J]. Genes (Basel), 2022, 13(11): 2029.
[38] LIU Q, WANG L, HE D, et al. Application value of antimicrobial peptides in gastrointestinal tumors[J]. Int J Mol Sci, 2023, 24(23): 16718.
[39] ZHOU C B, ZHOU Y L, FANG J Y. Gut microbiota in cancer immune response and immunotherapy[J]. Trends Cancer, 2021, 7(7): 647-660.
[40] 罗晓霞, 覃思华, 王晖迪, 等. 细菌外囊泡在疾病发生发展中的作用机制及应用前景[J]. 协和医学杂志, 2023, 14(5): 915-924.
[41] HUANG W, MENG L, CHEN Y, et al. Bacterial outer membrane vesicles as potential biological nanomaterials for antibacterial therapy[J]. Acta Biomater, 2022, 140: 102-115.
[42] LI N, YU Y, CHEN Q, et al. A gene delivery system with autophagy blockade for enhanced anti-angiogenic therapy against *Fusobacterium nucleatum*-associated colorectal cancer[J]. Acta Biomater, 2024, 183: 278-291.
[43] MONDAL S, ADHIKARI N, BANERJEE S, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and its inhibitors in cancer: A minireview[J]. Eur J Med Chem, 2020, 194: 112260.
[44] GETHINGS-BEHNCKE C, COLEMAN H G, JORDAO H W T, et al. *Fusobacterium nucleatum* in the colorectum and its association with cancer risk and survival: A systematic review and meta-analysis[J]. Cancer Epidemiol, 2020, 29 (3): 539-548.
[45] GUAN W L, HE Y, XU R H. Gastric cancer treatment: Recent progress and future perspectives[J]. J Hematol Oncol, 2023, 16(1): 57.